

51457-2000800-10361

**DELPHION**
[Log Out](#) [Work Files](#) [Saved Searches](#)
**RESEARCH****PRODUCTS****INSIDE DELPHION**

My Account

Search: Quick/Number Boolean Advanced Derwent Help

**The Delphion Integrated View: INPADOC Record**

Get Now: <input checked="" type="checkbox"/> PDF   More choices...	Tools: Add to Work File: <input type="button" value="Create new Work File"/> <input type="button" value="Add"/>
View: Jump to: <input type="button" value="Top"/> Go to: <a href="#">Derwent</a>	<input checked="" type="checkbox"/> Email this to a friend

⌘ Title: **CN193049A: METHOD FOR PRODUCING MICRO-ARRAY CHIP OF CHEMICAL COMPOUND BY MULTI-IMPRESSION FIXED-POINT SYNTHESIZING METHOD**

⌘ Derwent Title: Method for producing micro-array chip of chemical compound - by multi impression fixed point synthesis ([Derwent Record](#))

⌘ Country: CN China

⌘ Kind: A Unexamined APPLIC. open to Public inspection

⌘ Inventor: ZUHONG LU; China

LINGANG ZHANG; China

JIANMIN MA; China

⌘ Assignee: DONGNAN UNIV. China

News, Profiles, Stocks and [More about this company](#)

⌘ Published / Filed: 1998-09-16 / 1998-04-03

⌘ Application Number: CN19989898111220

⌘ IPC Code: [G12Q 1/00](#); [H01L 21/00](#)

⌘ ECLA Code: None

⌘ Priority Number: 1998-04-03 CN19989898111220

⌘ Abstract:

The present invention relates to a method for preparing various compound microarray chip by using multiple stamping fixed-point synthesis method. It is characterized by that firstly, according to therequired compound microarray a set of microstamps is designed and prepared, then a layer of correspondent chemical reactant is applied on every microstamp, and all the microstamps coated with said chemical reactant are stamped on same substrate one by one



High Resolution

in turn according to the designed order to form required compound microarray chip finally.

INPADOC  
Legal Status:

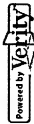
None Get Now: [Family Legal Status Report](#)

Family:

PDF	Publication	Pub. Date	Filed	Title
<input checked="" type="checkbox"/>	WO9951770A1	1999-10-14	1999-01-29	A METHOD FOR THE PREPARATION OF COMPOUND MICRO ARRAY CHIPS AND THE COMPOUND MICRO ARRAY CHIPS PRODUCED ACCORDING TO SAID METHOD
<input checked="" type="checkbox"/>	US6423552	2002-07-23	2001-01-09	Method for the preparation of compound micro array chips and the compound micro array chips produced according to said method
<input checked="" type="checkbox"/>	CN1193049A	1998-09-16	1998-04-03	METHOD FOR PRODUCING MICRO-ARRAY CHIP OF CHEMICAL COMPOUND BY MULTI-IMPRESSION FIXED-POINT SYNTHESIZING METHOD
<input checked="" type="checkbox"/>	AU2148099A1	1999-10-25	1999-01-29	A METHOD FOR THE PREPARATION OF COMPOUND MICRO ARRAY CHIPS AND THE COMPOUND MICRO ARRAY CHIPS PRODUCED ACCORDING TO SAID METHOD
4 family members shown above				

Other Abstract: None

Info:



[Nominate this for the Gallery...](#)

THOMSON

Copyright © 1997-2005 The Thomson Corporation

[Subscriptions](#) | [Web Seminars](#) | [Privacy](#) | [Terms & Conditions](#) | [Site Map](#) | [Contact Us](#) | [Help](#)



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 98111220.X

[43] 公开日 1998年9月16日

[11] 公开号 CN 1193049A

[22] 申请日 98.4.3

[71] 申请人 东南大学

地址 210018江苏省南京市四牌楼2号

[72] 发明人 陆祖宏 张林刚 马建民

徐春祥 陈亚莉

[74] 专利代理机构 东南大学专利事务所

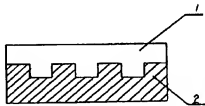
代理人 沈 康 王之梓

权利要求书 1 页 说明书 4 页 附图页数 2 页

[54] 发明名称 多次压印定点合成法制备化合物微阵列芯片的方法

[57] 摘要

多次压印定点合成法制备化合物微阵列芯片的方法是一种利用多次压印定点合成法制备各种化合物微阵列芯片的方法,该方法首先根据所需化合物的微阵列设计制备一套微印章,然后根据原先的设计在制备的各微印章上涂上一层对应的化学反应物,最后按照设计的顺序,将涂有化学反应物的微印章逐个依次盖在同一个基片上,最后形成所需化合物的微阵列芯片。



## 权 利 要 求 书

---

1. 一种多次压印定点合成法制备化合物微阵列芯片的方法,其特征在于首先根据所需化合物的微阵列设计制备一套微印章,然后根据原先的设计在制备的各微印章(1)上涂上一层对应的化学反应物,最后按照设计的顺序将涂有化学反应物的微印章(1)逐个依次压印在同一个基片上,利用微印章的凸凹来控制基片上化学反应的位置,最后在基片上形成所需的化合物微阵列芯片。

2. 根据权利要求1所述的多次压印定点合成法制备化合物微阵列芯片的方法,其特征在于其微印章(1)的制备方法是用光刻腐蚀等方法在硅片等基底上加工成具有所设计的凹凸图案的模板(2),然后将液状聚合物倾注在该模板(2)上,待该聚合物固化后,将固化的聚合物从模板(2)上揭下,该固化的聚合物表面就复制了原先模板(2)上的图案,即制成微印章(1)。

3. 根据权利要求1所述的多次压印定点合成法制备化合物微阵列芯片的方法,其特征在于其微印章(1)制备的方法是用光刻腐蚀等方法在硅片等基底上加工成具有所设计的凹凸图案的模板(2),然后在加热的状态下将该模板(2)压在固态的聚合物表面,待冷却后,取下聚合物即成所设计的微印章(1)。

4. 根据权利要求1或2或3所述的多次压印定点合成法制备化合物微阵列芯片的方法,其特征在于在同一个基片上多次压印的化学反应位置,可以是重叠的,也可以彼此不重叠。

## 多次压印定点合成法制备化合物微阵列芯片的方法

本发明是一种制备化合物微阵列芯片的方法,尤其是一种采用多次压印定点合成法制备化合物微阵列芯片的方法。

化合物微阵列的制备在生物检测、医学检测、药物筛选和化合物库的合成上有着极其重要的意义。例如在生物学中,随着分子生物学的不断发展,特别是举世瞩目的“人类基因组计划”实施以来,有关核酸、蛋白质序列和结构的数据呈指数增长。而下世纪最富挑战性的工作就是人类基因组计划完成后,即在“后基因时代”,我们如何对大量的分子信息进行分析,找出其中规律,使生物学由实验上升到理论,从而更好地认识生命现象,并使医学治疗产生根本革命。在医学中,“系统、器官、组织、细胞层次上的第二阶段医学”正在向“基因水平上的,DNA→RNA→蛋白质与蛋白质核酸相互作用,以及它们与环境相互作用水平上的第三阶段医学”转化。这种在基因层次上进行的基因诊断与基因治疗,将根本地认识疾病产生的根源,并将有希望根本认识和治疗包括癌症在内的多种疾病。这些生物学、医学的根本变革,一个根本的前提是基因序列的测定和分析。能否有效地进行基因测序与分析,将根本地影响到人类基因组计划的实施,从而影响到生物学、医学的进一步发展。传统基因测序采用凝胶电泳法,这种方法花费时间较长,且需要操作较繁,设备较大,不适合于大规模测序和便携化快速测序。在对传统基因测序方法进行改进的过程中,以基因芯片为代表的生物芯片技术应运而生。生物芯片技术是将生命科学研究中所涉及的许多不连续的分析过程,如样品制备,化学反应和分析检测等通过采用微电子、微机械等工艺集成到芯片中,使之连续化,集成化和微型化。这一技术的成熟和应用将在下个世纪的疾病诊断和治疗、新药开发、司法鉴定、食品卫生鉴定等领域带来一场革命,也将为生物信息的获得提供强有力的手段。

基因芯片利用杂交法进行测序。首先制备寡核苷酸分子探针阵列,然后将待测基因与分子探针阵列进行杂交,通过计算机对杂交结果进行分析而获得待测基因序列的信息。在基因芯片的制备中,其关键难题在于寡核苷酸分子探针阵列的制备。

人们希望制备的探针阵列空间分辨率高,并且合成工作量大,方法简单,成本低。目前,有两种制备寡核苷酸探针阵列的方法。一种是利用常规固相合成技术分别合成好需要的探针分子,然后利用喷打或印刷技术将不同的探针结合在基片上的不同位置,从而形成探针阵列。利用喷打或印刷方法制备探针阵列很难达到较高的空间分辨率,并且在探针分子制备时为逐个合成,合成工作量大。而另一种方法则是美国 Affymetrix 公司提出的利用模板定域光化学反应,在基片上合成探针阵列。利用这种方法制备探针阵列可达到较高的空间分辨率,而且在片合成时为并行合成,合成速度快。但由于光化学反应产率较低,反应中副反应较多,使得合成探针序列正确率难以提高(不足 30%)而且需要具有特殊保护基团的试剂,成本较高。这一制备探针阵列的困难严重地影响了基因芯片的研制。同样在寡聚氨基酸阵列,药物筛选,化合物库的合成等领域也需要有效的定域化学反应来制备化合物微阵列。

本发明的目的就是提供一种制备工艺简单、可靠、空间分辨率高,合成速度快,正确率高的多次压印定点合成法制备化合物微阵列芯片的方法。

本发明的方法是:

首先根据所需化合物的微阵列设计制备一套微印章,然后根据原先的设计在制备的各微印章上涂上一层对应的化学反应物,最后按照设计的顺序和位置将涂有化学反应物的微印章逐个依次压印在同一个基片上,用印章的凹凸控制基片上化学反应的位置,与基片上的化学基团反应,使化学反应物共价偶联在基片上,最后在基片上形成所需的化合物微阵列芯片。

其微印章的制备方法是利用光刻腐蚀等方法在硅片等基底上加工成具有所设计的凹凸图案的模板,然后将液状聚合物倾注在该模板上,待该聚合物固化后,将固化的聚合物从模板上揭下,该固化的聚合物表面就复制了原先模板上的图案,即制成微印章。

其微印章的另一种制备的方法是利用光刻腐蚀等方法在硅片等基底上加工成具有所设计的凹凸图案的模板,然后在加热的状态下将该模板压在固态的聚合物表面,待冷却后,取下聚合物即成所设计的微印章。

在同一个基片上多次压印的化学反应位置,可以是重叠的,即在同一位置,可以控制多步化学反应的顺序,也可以不重叠,定点化学反应。

本发明的优点是：

1. 在制备化合物微阵列时，利用微压印方法来控制反应物接触位置，从而在基片上定点进行化学反应，而化学反应本身与普通化学反应相似，从而反应效率较高，成本低。例如在制备寡核苷酸阵列中利用通用固相合成技术及其试剂即可。

2. 制备化合物微阵列时，利用光刻（或电子束刻蚀等）技术来制备模板，可以达到空间分辨率高。

3. 方法简单，对设备要求低，仅在制备模板时进行光刻，且一个微印章可使用几个月，压印上百次而无明显失效，生产成本低廉。仅通过压印控制化学反应区域，化学反应本身与通用方法相似，从而本方法使用范围广。

4. 化合物微阵列合成时为并行合成，合成工作量大大减小。例如仅需 80 次压印过程，即可制备  $4^{30}$  个寡核苷酸阵列。

图 1 是本发明中利用模板制备微印章的示意图。

图 2 是本发明利用分别对应涂有 A、B、C、D 四种化学反应物的四个微印章，用多次压印方法制备的化合物微阵列示意图。

图 3 是本发明利用分别对应涂有 A、B、C、D 四种化学反应物的四个微印章，用重叠压印的方法制备化合物微阵列示意图。

图 4 是制备二核苷酸全阵列的 1 号印章。

图 5 是制备二核苷酸全阵列的 2 号印章。

图 6 是制备二核苷酸全阵列的 3 号印章。

图 7 是制备二核苷酸全阵列的 4 号印章。

图 8 是制备二核苷酸全阵列的 5 号印章。

图 9 是制备二核苷酸全阵列的 6 号印章。

图 10 是制备二核苷酸全阵列的 7 号印章。

图 11 是制备二核苷酸全阵列的 8 号印章。

图 12 是基片上二核苷酸全阵列的示意图。

本发明的实施方案以多次微压印制备基因芯片为例：在干净的硅片上利用密封胶涂上一层 PMMA 光刻胶大于 2 微米厚，放在所设计的光刻模板下，进行曝光，从而形成具有表面凹凸的模板。然后将一小盒放在模板上，模板与小盒的位置进行校准，其误差小于  $2\mu\text{m}$ 。小盒的下底是空的，当该小盒放在模板上时，

模板位于小盒内的底部,在小盒的上部设有注入孔,从该孔中注入 PDMS,则 PDMS 以模板为底充满小盒。待 PDMS 固化后,将小盒连同里面的 PDMS 从模板上小心的取下,则 PDMS 复制了原模板上的凹凸图案,此时微印章即制成。

多次微压印制备寡核苷酸探针阵列:

将玻片清洗,干燥后,分别放入 APTS(氨基丙基三乙氧基硅烷)的苯溶液中反应 0.5~6 小时,在苯中漂洗后再放入琥珀酸的苯溶液中反应 1 小时,从而在硅片表面形成羧基。在 PDMS 印章上涂一层单核苷酸(例如 A,其 5'-OH 已用 DMT,二对甲氧三苯甲基,保护)和四唑的无水乙腈溶液。然后用微压印仪将印章压在基片上,压印位置由微压印仪对准。通过四唑的催化,A 的 3'-OH 化学键合在基片上。再利用不同的印章和不同的单核苷酸,重复上述过程,形成单核苷酸阵列。当第一层单核苷酸已制好后,将基片用苯硫酚(或三氯乙酸)的乙腈溶液脱去基片上核苷酸 5'-OH 上的保护剂 DMT,将 5'-OH 暴露,重复上述压印过程,可键合上第二、三、……层核苷酸分子。

多次压印制备二核苷酸全阵列设计:首先制作 8 只微印章,分别对应应在 8 只微印章上涂上 A、T、C、G、A、T、C、G 的乙腈溶液(同上所述,各单核苷酸 5'-OH 已由 DMT 保护,乙腈溶液中含有四唑)。在同一羧基化基片上将 8 只微印章依次压印,每压印四次,将基片在三氯乙酸的乙腈溶液中去保护剂 DMT,并且每次压印时由微压印仪的校准系统保证基片与各微印章在相同位置。则在基片上形成了二核苷酸全阵列芯片。



# 说明书附图

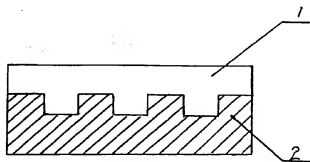


图 1

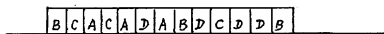


图 2

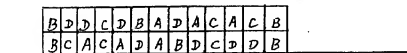


图 3

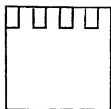


图 4

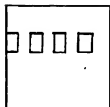


图 5

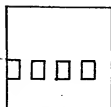


图 6

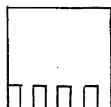


图 7

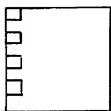


图 8



图 9

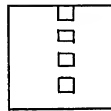


图 10

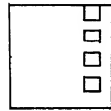


图 11

AA	AT	AC	AG
TA	TT	TC	TG
CA	CT	CC	CG
GA	GT	GC	GG

图 12